BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
2e Série — Tome 33 — N° 4, 1961, pp. 436-445.

ONTOGÉNÈSE DE LA FEUILLE
I, Morphologie de la feuille du Lupinus albus *L. étudiée par une méthode de ponctuation des primordiums.*

Par Christian FUCHS

Introduction.

L'étude de l'ontogénèse de la feuille a été principalement menée par les méthodes d'anatomie classique ; elle a permis de préciser le rôle de plusieurs régions méristématiques dont le fonctionnement domine l'histogénèse. Le mécanisme qui règle les filiations cellulaires dans le limbe a été décrit pour de nombreuses espèces ; il semble dépendre de la présence d'une cellule dite « initiale », dont les mitoses, selon qu'elles sont anticlines ou périclines, donnent naissance à des cellules méristématiques superficielles ou internes. Une première étude du développement de la feuille du *Lupinus albus* L. nous a permis de constater la réalité de ces filiations cellulaires mais l'examen de coupes histologiques dont l'orientation est plus ou moins bien connue ne nous paraît pas suffisant pour donner à une cellule ce rôle de cellule-mère. Les techniques microchirurgicales, déjà utilisées avec succès dans l'étude du méristème apical, peuvent apporter des preuves plus concluantes de l'existence de ces initiales.

Des interventions sur une jeune feuille nécessitent la suppression des diverses parties de la plante qui la couvrent. Le développement de primordiums témoins, produits par des plantules ainsi défoliées, a été étudié et les premiers résultats sont donnés ici ; par la suite il pourra lui être comparé le développement de primordiums opérés.

Techniques et méthodes.

Cette étude a été entreprise sur la 5e feuille uniquement ; elle apparaît la première sur la plantule, les feuilles 1, 2, 3 et 4 étant présentes dans la graine. Trois défoliations ont donc été opérées :

1° suppression de la 2e feuille ;
2° suppression de la 2e, de la 3e feuille et du cotylédon qui lui est contigu ;
3° suppression des feuilles 1, 2, 3, 4 et de 1 cotylédon ;
la 5e peut ainsi être observée et atteinte sous différents angles.

Le *Lupinus albus* L. qui a été utilisé est la race n° 4252 du Jardin Botanique de Sacavem. Les graines étaient mises en germination dans des boîtes

de Pétri, opérées au bout de 24 heures, puis placées dans des pots. La culture a été faite sur laine de verre avec une solution nutritive de formule classique. La lumière était donnée par des tubes fluorescents produisant un éclairement de 6.000 lx au niveau des plantules pendant 16 heures par jour. Les températures diurne et nocturne étaient de 25° et 20°. Indépendantes des saisons, les conditions de culture furent identiques pendant la durée des expériences. Des mesures ont été faites quotidiennement à la loupe binoculaire ; des petits points colorés (5 μ, encre Watermann) placés sur le jeune primordium avec une micropipette ont permis de suivre le développement de différentes régions de la feuille. Nous avons employé le micromanipulateur de Fonbrune pour supprimer les jeunes feuilles et pour disposer les points.

Les feuilles sont numérotées dans le sens ascendant à partir du cotylédon. Les folioles sont numérotées dans le sens des aiguilles d'une montre, de 1 à 7, la feuille étant regardée par sa face adaxiale ; lorsque la feuille n'a que 5 folioles la numérotation commence à 2 et finit à 6, la foliole 4 étant toujours médiane.

Résultats.

1. *Morphogénèse et croissance d'une feuille 5 normale.* — Le primordium foliaire apparaît tout d'abord comme une projection hémisphérique du dôme apical (fig. 1) ; il s'allonge en un cône pointu aplati adaxialement. Sous cette première émergence se constitue un massif qui la déborde, formant ainsi les deux bases des futures stipules (fig. 2). Le développement des folioles se fait alors rapidement à partir de ce dôme en direction basipète. La foliole 4 apparaît au sommet ; puis de chaque coté, mais légèrement sur la face ventrale se forment les deux folioles 3 et 5 (fig. 4) ; ce sont des cônes aplatis de 100 μ de section qui se recourbent vers l'apex de la tige. Les folioles 2 et 6 apparaissent presque toujours simultanément sur les bords de la face adaxiale sous les folioles 3 et 5 et contre les stipules qu'elles dominent. Dans les conditions de culture indiquées cette première phase de l'établissement de la feuille se déroule en 60 heures. La croissance en hauteur du primordium est plus rapide sur la face dorsale que sur la face ventrale, il en résulte la courbure hyponastique habituelle chez les jeunes feuilles. Les stipules s'allongent en un large cône aplati ; des poils unicellulaires apparaissent sur la face adaxiale du primordium, entre les bases des pétiolules et sur la face abaxiale des folioles et des stipules. Quand le primordium à 450 μ environ une ou deux folioles peuvent parfois se former sous les folioles 2 et 6 (fig. 7). Les points d'insertion des folioles sont donc disposés en cercle (fig. 7) et leur plan forme un angle de 40° avec l'axe de la partie inférieure de la jeune feuille.

Quand le primordium a 500 μ de hauteur, la partie adaxiale de la foliole centrale s'invagine légèrement, d'abord dans le tiers supérieur puis jusqu'à la base ; les autres folioles seront les unes après les autres, dans l'ordre de leur apparition, le siège de cette croissance marginale qui dominera longtemps l'édification du limbe (fig. 6, 7, 8). La partie non-stipulaire du pétiole est une formation tardive qui survient quand la jeune feuille

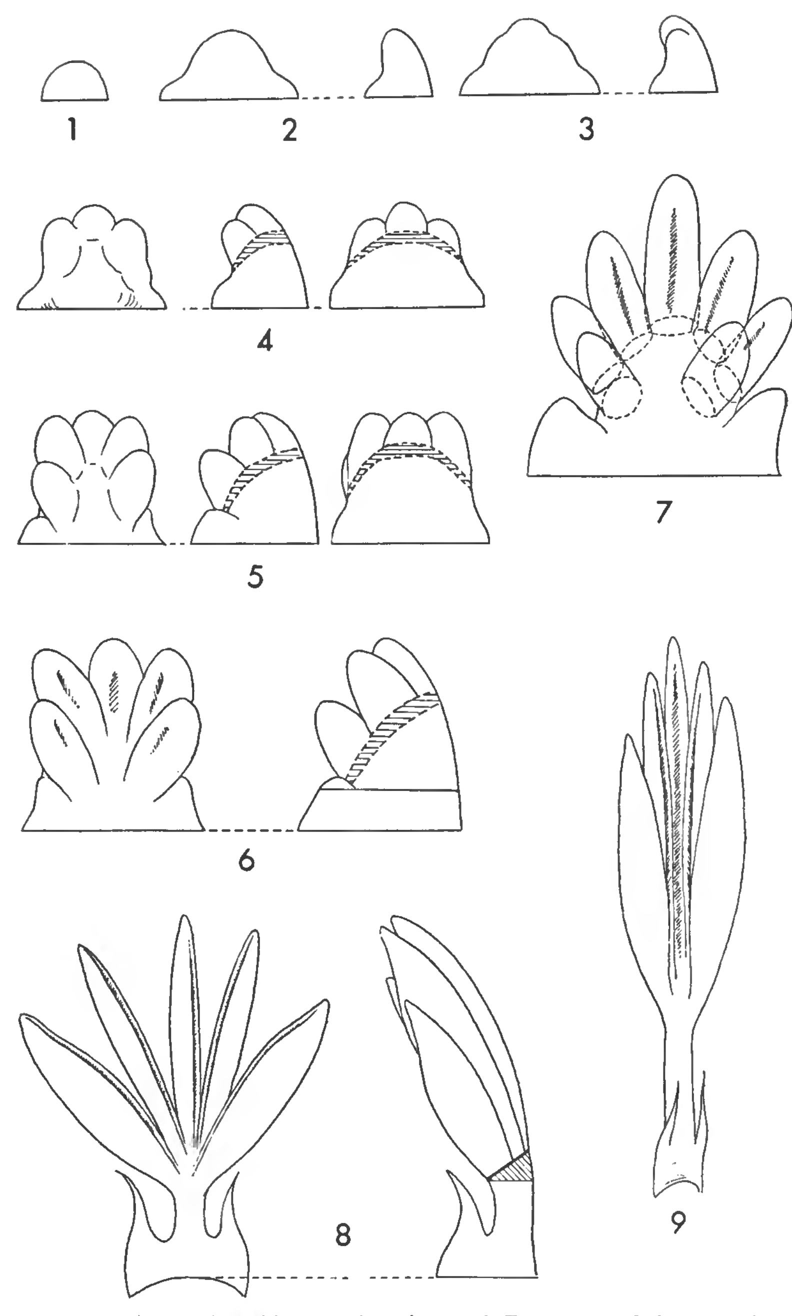


Fig. 1 à 7 (× 50). — 1. Apparition du primordium. — 2. Emergence de la base des stipules. — 3. Formation de la foliole centrale. — 4. Les folioles 3, 4, 5 se développent ; la foliole 6 apparaît entre la base de la stipule et la foliole 5, l'anneau est indiqué en gris. — 5. Début de la croissance des stipules. — 6. Premiers stades de la croissance marginale. — 7. Disposition des folioles quand leur nombre est de 7, leurs bases forment un anneau presque fermé ; début de la croissance du pétiole. — 8 (× 10). — Jeune feuille haute de 4.800 μ ; sous l'anneau (en noir) est indiqué le cylindre tronqué (hachures). — 9 (× 5). Feuille de 14 mm ; les pétiolules sont formés.

atteint 800 μ de haut : une zone de croissance active se différencie sur l'axe entre le point d'insertion des folioles les plus basses et les stipules. La taille de la feuille s'accroît rapidement à ce stade, l'élongation du pétiole s'ajoutant à celle des folioles qu'il soulève. Les pétiolules apparaissent quand le limbe a environ 5 mm de hauteur.

La courbure épinastique de la feuille s'amorce peu à peu ; le pétiole

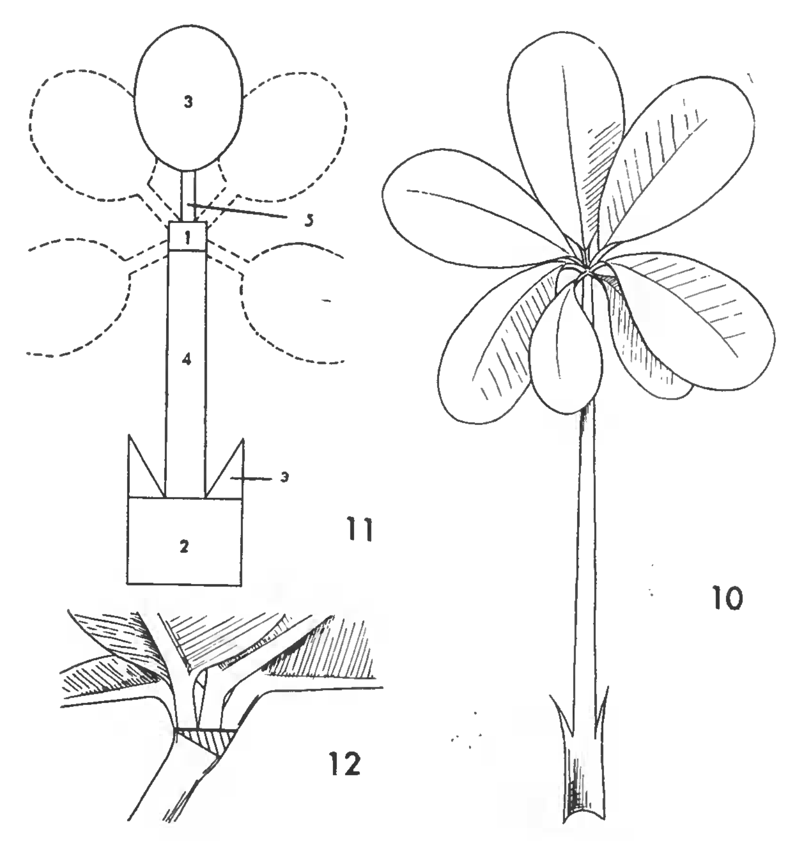
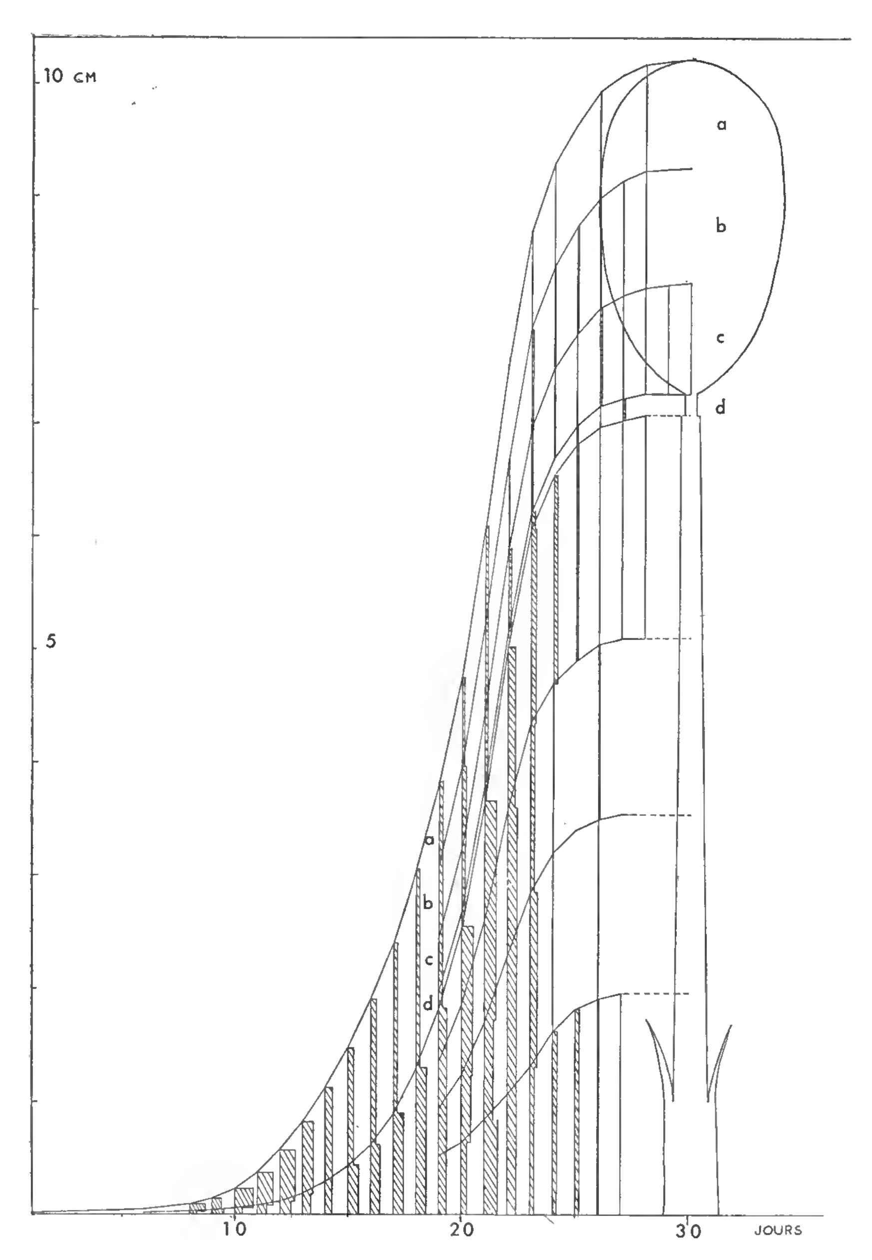


Fig. 10 (grandeur nature). Feuille normale adulte. — Fig. 11. Schéma indiquant l'ordre d'apparition des différentes zones de la feuille. — Fig. 12. Insertion des pétiolules sur le pétiole ; on voit dans la feuille adulte l'anneau et le cylindre soulevé par le pétiole.

s'éloigne de l'axe de la plantule avec lequel il forme finalement un angle de 30 à 40°. Le rejet des folioles loin de l'axe du pétiole dépend de leurs orientations (fig. 12) : les folioles adaxiales se rabattent les premières par une pliure au niveau de l'insertion du pétiolule sur le pétiole, une seconde pliure à l'insertion du limbe sur le pétiolule infléchit l'ensemble ; une courbure unique se forme entre le limbe des folioles abaxiales et leurs pétiolules. L'angle formé entre le plan des folioles et le pétiole est finalement de 120°. Les folioles se ployent vers le sol pendant les heures de nuit, cette inclinaison supplémentaire se fait aux dépens des pétiolules dont les côtés



GRAPHIQUE 1. — Courbe représentative de la croissance d'une feuille témoin ; 4 régions *a*, *b*, *c*, *d* sont délimitées le 19e jour ; la croissance quotidienne est indiquée par la largeur des zones grises.

dorsaux se compriment en formant de légers plis. Tandis que la feuille se dégage du centre de la plantule les ailes du limbe s'ouvrent et les folioles s'épanouissent radialement.

L'ontogénèse de la feuille dure 30 jours dans les conditions définies ; au bout de 8 à 9 jours les folioles se courbent vers l'extérieur puis les pétiolules se détachent du pétiole qui tombera 10 jours après.

La feuille 5 adulte est donc digitée, munie d'un long pétiole et de stipules ; sa hauteur moyenne est de 102 mm (pétiole : 72 mm, pétiolule : 2 mm, limbe : 28 mm) ; le nombre des folioles est variable, il est de 5 dans 54 % des cas (6 : 19 %, 7 : 27 %). Les folioles 1 et 7 sont toujours nettement plus petites : 60 % de la foliole centrale. La forme du limbe est soumise à de légères variations, son sommet peut montrer une petite invagination ; le rapport de sa longueur et de sa largeur est de 1,8.

Le pétiole a un diamètre moyen de 2,2 mm, sa base s'élargit et entoure partiellement la tige. Les stipules sont deux lames hautes de 7 mm. Le rapport des longueurs du pétiole et de la foliole centrale est de 2,3.

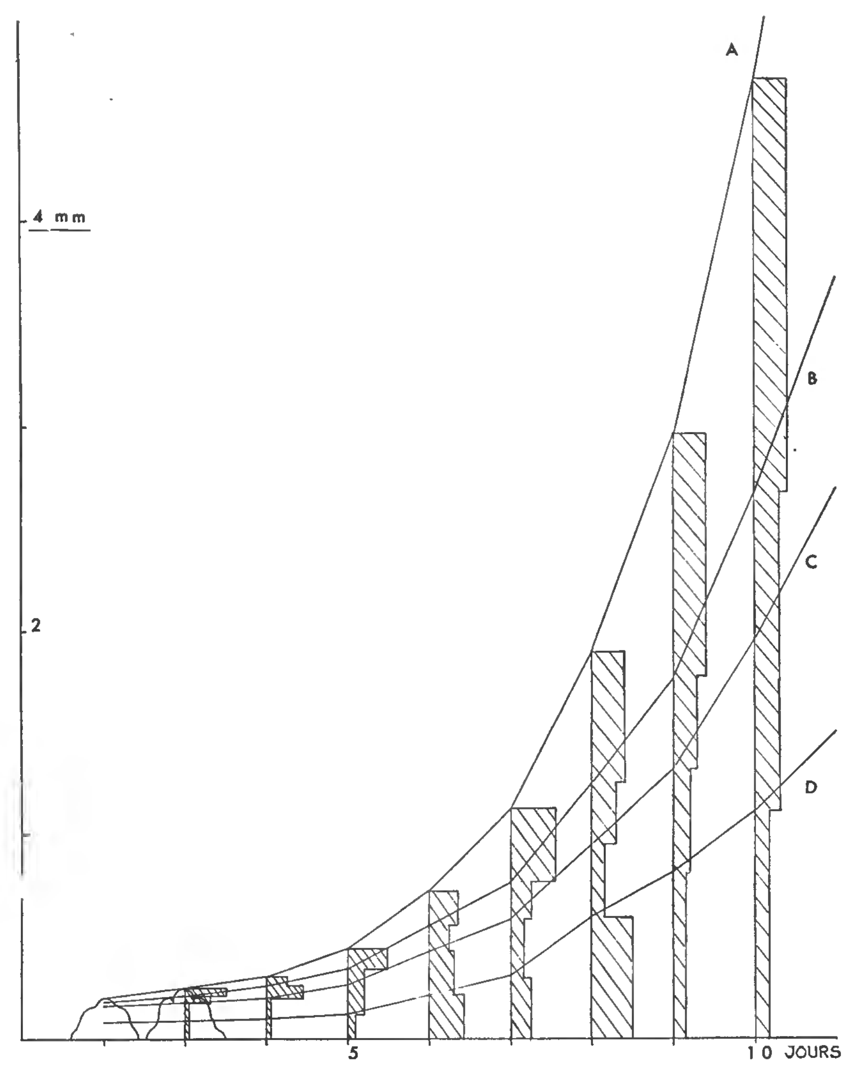
Au début la croissance de la feuille normale a été étudiée en la prélevant chaque jour sur une plantule différente. Quand au bout de 19 jours la feuille est sortie de la partie centrale de la plante il est possible de faire sur elle des repères colorés et de suivre le développement des différents segments. Sur le graphique I sont portés les résultats des mesures prises sur des feuilles détachées (jusqu'au 19e jour) puis sur une même feuille vivante avec les zones délimitées par les points. L'étude des courbes donne des indications sur le mode de croissance. On constate que la foliole est une formation précoce : le pourcentage d'augmentation de hauteur est maximum du 7e au 13e jour, il diminuera ensuite régulièrement et les deux derniers jours seul le tiers inférieur du limbe s'allonge encore. L'arrêt de la croissance du pétiole précède de 48 heures celui du limbe ; il survient dans la partie inférieure avant de gagner le sommet.

2. *Morphogénèse et croissance de la feuille 5, la feuille 2 étant supprimée.* — Le primordium 5 est donc dégagé et grâce à de petits points colorés il est possible de donner quelques premières précisions complémentaires sur la participation des différentes régions du primordium dans le développement de la feuille.

Dès la formation de la foliole centrale 4, plusieurs points distants de 30 μ peuvent être faits sur la face dorsale du primordium (fig. 4). L'examen de la croissance quotidienne de chaque intervalle montre qu'elle est nettement plus faible dans la région où s'insèrent les folioles sur le pétiole que dans les zones contiguës et de mêmes étendues ; cette région particulière est un anneau épais de 30 μ environ, incliné de 40° sur l'axe du primordium. La croissance de cet anneau cesse après la formation de la dernière foliole ; lors de la chute des folioles, la cassure aura lieu à son niveau.

Par ailleurs, si après son apparition, un point est mis à la base de la dernière foliole, on délimite ainsi sur le pétiole un cylindre tronqué compris entre ce point, l'anneau mentionné précédemment (qui comprend ce point), et un plan perpendiculaire au pétiole passant également par ce

point (fig. 6). Le pétiole dont la croissance débute alors soulève cette région (fig. 8) qu'il est possible de suivre jusqu'à la fin de la croissance de la feuille. Les grandissements respectifs de cette zone et du reste du pétiole



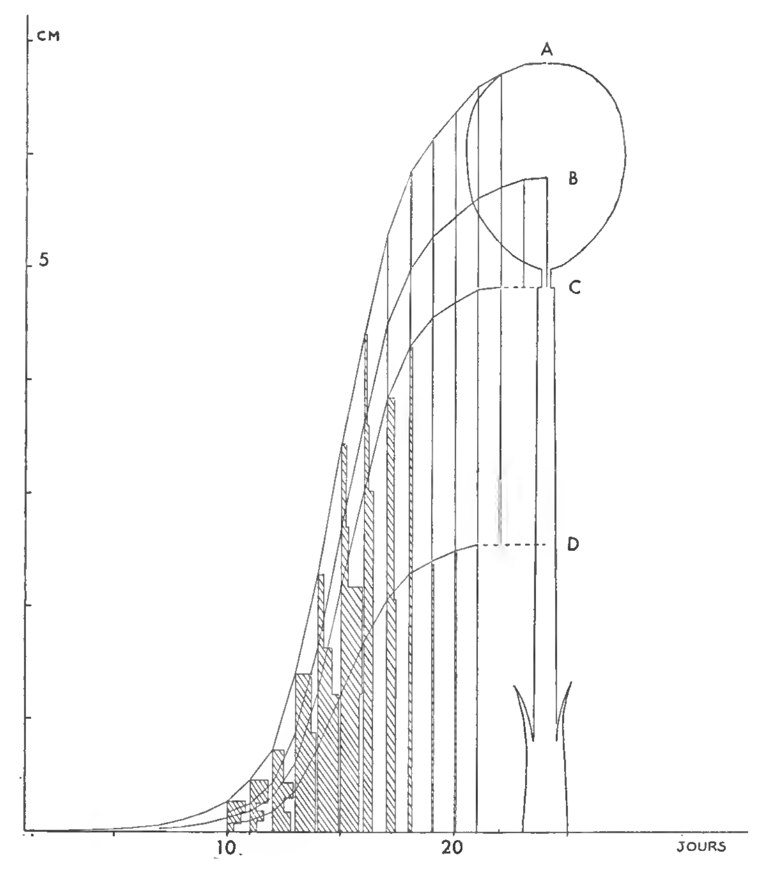
Graphique 2. — Courbe de croissance d'une feuille 5, la feuille 2 étant supprimée ; 3 points B, C, D, ont été placés sur le primordium.

(dont elle fait partie) sont de 7 et dc 40. L'angle de ce cylindre tronqué semble dépendrc du niveau d'insertion de la feuille sur la tige, l'inclinaison des folioles sur le pétiole étant en rapport avec le rang de la feuille.

Les deux régions décrites, anneau formant la base des folioles et la

portion de cylindre qu'il domine, se forment donc tôt dans l'ontogénie et sont parfaitement autonomes. Des recherches expérimentales complémentaires et l'emploi des méthodcs classiques doivent préciser encore leur première origine et leur fonctionnement.

La croissance de la feuille 5, la feuille 2 étant supprimée est de plus courte durée et plus rapide que celle des feuillcs normales (graphique 2).



Graphique 3. — Suite du graphique 2.

Le maximum de croissance, situé d'abord dans le haut du limbe descend le 12e jour dans la partie inférieure qui sera la dernière à montrer quelque allongement ; la croissance du pétiole, probablement irrégulière à cause de la proximité de la zone de cicatrisation s'arrête en premier lieu dans la partie inférieure. Le développement de la feuille dure 24 jours ; elle mesure alors 68 mm (pétiole 48 mm, foliole 18 mm, pétiolule 2 mm) ; elle a donc subi une diminution de taille de 34 % par rapport à la feuille témoin. Le rapport des longueurs du pétiole et dc la foliole est de 2,4 ; le rapport de

la longueur et de la largeur du limbe est de 1,5, le limbe est légèrement plus arrondi que celui des témoins. Le nombre des folioles est de 5 dans 100 % des cas étudiés.

3. *Croissance de la feuille 5, lorsque sont supprimés la feuille 2, la feuille 3 et le cotylédon qui lui est contigu.* — La formation de la feuille dure alors 27 jours mais la croissance est plus lente que dans le cas précédent. La feuille a une hauteur de 54 mm (pétiole 37 mm, foliole 16 mm, pétiolule 1 mm). Le rapport des longueurs du pétiole et de la foliole est de 2,1. La largeur du limbe est de 11 mm ; le rapport de sa longueur et de sa largeur est de 1,4. La diminution de hauteur causée par cette mutilation est de 48 %.

La morphogénèse se déroule d'une façon identique à celle qui fut observée précédemment. Toutes les feuilles examinées présentaient 5 folioles.

4. *Croissance de la feuille 5, les feuilles 1, 2, 3 et 4 et 1 cotylédon étant supprimés.* — La croissance est dès le début et jusqu'au 21e jour beaucoup plus rapide que celle des témoins, les pourcentages d'augmentation de taille peuvent dépasser 100 pendant cette période. La feuille atteint sa hauteur maximum en 25 jours, elle mesure alors 64 mm (pétiole 41 mm, foliole 22 mm, pétiolule 1 mm). Le rapport des longueurs du pétiole et de la foliole centrale est de 1,9. Le limbe a une largeur de 14 mm, soit une diminution de 13 % sur la feuille témoin ; il est large et fortement arrondi : le rapport de sa longueur et de sa largeur est de 1,5. Cette mutilation provoque donc la formation de feuilles trapues à larges limbes ; c'est l'aspect caractéristique de la feuille la plus âgée qu'une mutilation ait épargnée, c'est, par exemple, le cas de la première feuille dans les deux opérations précédemment décrites.

La distribution des zones de croissance maximum et les différents stades de l'ontogénèse sont identiques à ceux des témoins.

L'ontogénèse des feuilles issues de graines mutilées a montré un grand nombre de points communs : le pourcentage de croissance quotidienne est supérieur à 10 dans les trois premiers quarts de la durée totale du développement ; les déplacements le long de la feuille des zones de forte croissance sont semblables ; les organes apparaissent aux mêmes stades de l'ontogénèse. Seules varient les dimensions des organes adultes et parfois leurs relations : le rapport de la longueur et de la largeur du limbe montre une très faible variation dans les trois cas de mutilation ; il est inférieur à celui des témoins. Le rapport entre les longueurs du pétiole et de la foliole est irrégulier et généralement plus petit que celui des témoins. Les feuilles 5 formées à partir de graines mutilées portent 5 folioles dans la totalité des cas étudiés.

Résumé.

L'ontogénèse de la feuille 5 du *Lupinus albus* L. dont les graines ont subies trois différentes mutilations est suivie grâce à des points colorés placés sur le primordium ; elle est comparée au développement d'une feuille normale. Deux régions à vocation particulière ont été localisées dans le primordium foliaire.

Laboratoire de Biologie Végétale Appliquée.